MG1655 Chemically Competent Cell 产品说明书

● 产品规格（CAT#：DL2030）

MG1655 Competent Cell	100μl /支
pUC19 (control vector, 10pg/μl)	10μl
保存条件（保质期）:	-80℃（6 个月）

● 基因型

K12 F- *lambda- ilvG- rfb-50 rph-1*

● 产品说明

MG1655 菌株来源于 W1485，是 K12 的衍生菌株，是一种经过较少改造，比较接近于“WT-野生型”的大肠杆菌工程菌株。MG1655 外观形态标准，同时可做为扩增大肠杆菌 WT 型基因的模板使用，也可作为蛋白表达的宿主菌株使用，但不含核酸酶 *endA1* 突变，体内核酸酶含量较高，提取质粒时务必使用质粒提取试剂盒中去蛋白液尽量去除核酸酶，以防提取的质粒被降解。pUC19 质粒（2686bp，Amp^R）检测转化效率>0.5×10^8 cfu/μg DNA。

● 操作方法

1. MG1655 感受态细胞从-80℃拿出，迅速插入冰中，5 分钟后待菌块融化，加入目的 DNA（质粒或连接产物）并用手拨打 EP 管底轻轻混匀(避免用枪吸打)，冰中静置 25 分钟。
2. 42℃水浴热激 45 秒，迅速放回冰上并静置 2 分钟，晃动会降低转化效率。
3. 向离心管中加入 700 μl 不含抗生素的无菌培养基 (2YT 或 LB)，混匀后 37℃，200 rpm 复苏 60 分钟。
4. 5000 rpm 离心 1 分钟收集菌体，留取 100 μl 左右上清轻轻吹打重悬菌块并涂布到含相应抗生素的 2YT 或 LB 培养基上。

● 注意事项

1. 感受态细胞最好在冰中缓慢融化。插入冰中 8 分钟内加入目标 DNA，不可在冰中放置时间过长，长时间存放会降低转化效率。
2. 转化高浓度的质粒或高效率的连接产物可相应减少最终用于涂板的菌量。
3. 若要获得大量，高纯度质粒，建议在 TB 培养基（唯地 CAT#：CM1018L）中摇菌培养（以标准质粒 PUC19 为例：在 TB 营养液中过夜培养的菌体浓度和质粒产量为 LB 的 3-4 倍，SOC 的 2 倍）